

光照对坛紫菜生长和无机碳利用的影响

徐琳杰, 李梦雅, 许 凯, 徐 燕, 纪德华, 王文磊, 陈昌生, 谢潮添

(集美大学水产学院, 福建 厦门 361021)

[摘要] 以坛紫菜 Z-61 品系为研究材料, 分析坛紫菜叶状体和丝状体在三种光强 ($10, 50, 500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 下的应答。发现: 1) 坛紫菜叶状体和丝状体的光系统 II 最大量子产量及叶绿素 *a* 和藻红蛋白的含量都随光强增加而降低, 但净光合速率、最大光合速率、胞外碳酸酐酶活性和总碳酸酐酶活性则随光强增加而增加。2) 当光强从 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 增加到 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 坛紫菜叶状体的生长速率约增加 77%; 丝状体的生长速率先增加后降低, 在光强 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下达到最低, 比在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下显著下降了约 90%。3) 在三种光强下, 坛紫菜叶状体的最大光合速率、光系统 II 最大量子产量和生长速率都大幅高于丝状体。这些结果表明: 坛紫菜的光系统 II、光合作用与生长对光强的应答并不完全一致; 叶状体比丝状体更适应高光, 这可能是长期进化的结果; 光强可以改变坛紫菜对无机碳的吸收。

[关键词] 坛紫菜; 世代差异; 光合作用; 生长; 二氧化碳浓缩机制

[中图分类号] S 968.431

Differences in the Light Response of Thallus and Conchocelis of Economic Seaweed *Pyropia haitanensis* on Growth and Photosynthesis

XU Linjie, LI Mengya, XU Kai, XU Yan, JI Dehua, WANG Wenlei,

CHEN Changsheng, XIE Chaotian

(Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: *Pyropia haitanensis* strain Z-61 was used as the study material to analyze the responses of conchocelis and thallus to three light intensities ($10, 50, 500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). The maximum photosystem II quantum yield, and chlorophyll *a* and phycoerythrin content of conchocelis and thalli were found to decrease with increasing light intensity, but the net photosynthetic rate, maximal photosynthetic rate, extracellular carbonic anhydrase activity and total carbonic anhydrase activity of conchocelis and thalli increased with increasing light intensity. When the light intensity increased from $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ to $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, the growth rate of thalli increased by about 77%, while the growth rate of conchocelis increased and then decreased, reaching a minimum at $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, with a significant decrease of about 90% compared with that at $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. In addition, the maximal photosynthetic rate, maximum photosystem II quantum yield and growth rate of thallus were substantially higher than those of conchocelis under all three light intensities. These results indicated that there are significant differences between responses of photosystem II, photosynthesis and growth of *P. haitanensis* to light

[收稿日期] 2021-11-07

[基金项目] 蓝色粮仓重点研发子项目 (2018YFD0901500); 现代农业产业技术体系专项 (GARS-50); 集美大学国家自然科学基金培育计划项目

[作者简介] 徐琳杰 (1997—), 女, 硕士生, 从事坛紫菜遗传育种研究。通信作者: 谢潮添 (1977—), 男, 教授, 从事坛紫菜遗传育种及生物技术研究。E-mail: ctxie@jmu.edu.cn

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

intensity, and that thalli are more adapted to high light than conchocelis, which may be the result of long-term evolution. Light intensity can change the uptake of inorganic carbon by *P. haitanensis*.

Keywords: *Pyropia haitanensis*; generational differences; photosynthesis; growth; CO₂ concentrating mechanism

0 引言

坛紫菜 (*Pyropia haitanensis*) 是一种具有较高经济价值和生态价值的大型养殖海藻, 在福建、浙江、广东等沿海地区大量栽培。栽培坛紫菜已成为近海生态系统的重要组分, 它在近海碳循环和缓解富营养化方面发挥着重要作用^[1]。坛紫菜通过 CO₂ 浓缩机制 (CCM) 来吸收海水中的两种无机碳: HCO₃⁻ 和 CO₂, 然后将无机碳转化为有机碳并释放出氧气, 这导致大气中的 CO₂ 由于溶入海水而减少^[2-3]。对于坛紫菜等水生藻类, 当水体中无机碳的组成或浓度发生改变时, 藻体能够通过调节 CCM 中关键酶的活性来适应变化^[4]。CCM 关键组分包括碳酸酐酶 (CAs)、核酮糖-1, 5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 和无机碳转运系统。CAs 是一类同工酶, 普遍存在于光合生物中, 能高效催化可逆的 CO₂ 水合反应。其中, 胞外碳酸酐酶 (eCA) 主要催化水体中的 HCO₃⁻ 向 CO₂ 快速转化, 以供藻类细胞利用; 胞内碳酸酐酶 (iCA) 主要分布在胞内及叶绿体中, 催化胞内 HCO₃⁻ 转化成 CO₂, 以提高 Rubisco 羧化位点的 CO₂ 浓度^[5]。通过对坛紫菜的叶状体和丝状体进行对比研究, 发现坛紫菜 CCM 存在明显世代差异^[2,6]。

大型海藻主要分布在潮间带, 接受的光照强度和波长会随着混合层深度及海水透光性的变化而发生改变。因此, 大型海藻必须具备光适应机制, 以满足自身对光照的需求。坛紫菜由叶状体 (配子体) 和丝状体 (孢子体) 两个世代构成异形世代交替生活史, 两个世代在形态及生活环境等方面都差异显著^[7]。在自然环境中, 丝状体生长在低潮区或潮下带的贝壳等石灰岩基质的内部, 叶状体附着在中高潮区的岩礁上生长^[8]。这种生活环境的差异表明坛紫菜的两个世代对光强的要求可能不同^[9]。为此, 研究人员分析了光强对坛紫菜生长的影响^[10-12]: 在 50 μmol · m⁻² · s⁻¹ 光强下, 坛紫菜叶状体的生长和光合速率都高于丝状体; 当光强高于 100 μmol · m⁻² · s⁻¹ 时, 坛紫菜丝状体生长受到抑制; 而在 550 μmol · m⁻² · s⁻¹ 光强下, 叶状体生长速率没有受到显著抑制。

坛紫菜生长的基础是光合作用, 即以光能为能量来源, 吸收无机碳并合成有机物。理论上光与无机碳利用的关系非常紧密, 但以往研究并不认可这一点^[13]。为此, 本研究拟分析坛紫菜叶状体及丝状体在不同光照条件下生长和无机碳利用上的差异。本研究拟通过室内培养实验, 分析在 10, 50, 500 μmol · m⁻² · s⁻¹ 三种光强下, 坛紫菜光合速率、生长、色素、无机碳吸收速率和碳酸酐酶活性等应答光照强度的变化, 有利于进一步了解坛紫菜光合生理及无机碳利用的差异。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为坛紫菜 Z-61 品系, 由集美大学坛紫菜团队通过杂交方法选育获得, 以自由丝状体形式保存在福建省坛紫菜种质资源库。藻体培养温度为 21 ℃, 光周期为 12 L: 12 D, 光照强度为 50 μmol · m⁻² · s⁻¹, 培养液每 2 d 更换一次, 以保证生长过程中有充足的营养盐。叶状体培养至 15 cm 左右, 剪成 2~3 cm 长的片段。丝状体用茶漏匙收集。藻体用无菌纱布吸干表面水分备用。将藻体分别放入 1 L 培养瓶中, 培养 2 d (短期) 和 7 d (长期), 设置 10, 50, 500 μmol · m⁻² · s⁻¹ 三种光强, 每种处理设置三个生物学重复。

1.2 荧光参数的测定

将藻体放置于 21 ℃ 温度恒定的培养室内, 暗处理 15 min, 随后用 Diving-PAM (Walz, Germany) 分别测定丝状体和叶状体的光系统 II 最大光化学效率 F_v/F_m , 其饱和脉冲光强为 8000 μmol · m⁻² · s⁻¹。

1.3 净光合速率的测定

采用黑白瓶法测定净光合放氧速率。用纱布轻压丝状体和叶状体去除表面的水分, 称量其鲜重 (W_F)。然后将藻体放入玻璃溶氧瓶中, 以不加藻体的作为空白瓶。白瓶置于对应生长光强下培养4 h。测定培养前后的溶解氧浓度。溶解氧测定方法参考国家标准 (GB 7489—1987), 用 G20 电位滴定仪 (METTLER-TOLDO) 自动检测滴定终点并识别等当点。白瓶和空白瓶的溶解氧差值用于计算净光合速率。

1.4 CA 的测定

参照 Wilbur^[14] 的方法测定 eCA 及总碳酸酐酶 (total CA) 活性。取适量藻体称量鲜重 (W_F), 并用无碳海水冲洗三遍。无碳海水的配置方法: 加入盐酸使新鲜海水培养基的 pH 值小于 3, 在冰浴条件下, 充氮气 30 min, 随后加入 Tris 试剂使最终质量浓度为 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 继续充氮气 30 min, 然后添加 NaOH 将海水 pH 值调整为 8.1。将漂洗后的藻体放入 5 mL 无碳海水中, 迅速加入 2.5 mL CO_2 饱和海水, 立即计时, 记录混合液 pH 值从 8.1 降到 7.2 的时间 ($T_{\text{藻样}}$)。同时记录不加藻体的无碳海水 pH 值下降时间 ($T_{\text{空白}}$), 并依照公式 $E(\text{eCA}) = (T_{\text{空白}} \div T_{\text{藻样}} - 1) \div W_F$ 计算 eCA 的活性 $E(\text{eCA})$ 。

对于总碳酸酐酶活性, 取适量藻体, 用 2 mL 无 CO_2 海水研磨粉碎, 将 1 mL 匀浆与 4 mL 无碳海水及 2.5 mL CO_2 饱和海水迅速于烧杯中混合。记录 $T_{\text{藻样}}$ 和 $T_{\text{空白}}$, 并依照公式 $E(\text{total CA}) = (T_{\text{空白}} \div T_{\text{藻样}} - 1) \div (0.5 \times W_F)$ 计算总碳酸酐酶的活性 $E(\text{total CA})$ 。

1.5 色素含量的测定

用纱布吸掉藻体表面水分, 称其鲜重。取 3 份藻体置于 55 °C 烘箱中烘 2 h, 称其干重 (W_D)。测定藻体的含水率 (W_C)。

参照 Jensen^[15] 的方法测定叶绿素 *a* (Chl *a*) 含量。将藻体在 4 °C 的 90% (体积分数) 丙酮中研磨粉碎, 将组织匀浆放入 50 mL (V) 磨口瓶中。室温下, 遮光萃取 24 h, 离心后取上清液, 用分光光度计测定其在 666 nm 和 730 nm 处的吸光度值 (A)。Chl *a* 质量比 (mg/g) 的计算公式为: $w(\text{Chl } a) = (A_{666} - A_{730}) \times 10V \div 890 \times [W_F(1 - W_C)]$ 。

参照高洪峰^[16] 的方法测定藻胆蛋白含量。将藻体在 4 °C 的 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS (pH = 6.8) 缓冲液中研磨粉碎。将组织匀浆放入 -20 °C 冰箱冷冻, 待完全冷冻后取出放置在室温下解冻, 反复冻融 6 次, 然后于 4 °C 冰箱中过夜。离心后取上清液, 用分光光度计测定其在 565, 615, 650, 615, 730 nm 处的吸光度值 (A)。每克藻体中藻红蛋白 (PE)、藻蓝蛋白 (PC)、别藻蓝蛋白 (APC) 质量比 w (mg/g) 的计算公式^[16] 为:

$$w(\text{PE}) = [0.123(A_{565} - A_{730}) - 0.068(A_{615} - A_{730}) + 0.015(A_{650} - A_{730})] \times V \div [W_F(1 - W_C)],$$

$$w(\text{PC}) = [0.162(A_{615} - A_{730}) - 0.001(A_{565} - A_{730}) - 0.098(A_{650} - A_{730})] \times V \div [W_F(1 - W_C)],$$

$$w(\text{APC}) = [0.171(A_{650} - A_{730}) - 0.006(A_{565} - A_{730}) - 0.004(A_{615} - A_{730})] \times V \div [W_F(1 - W_C)]。$$

1.6 光合-无机碳响应曲线 (P-C 曲线)

配置不同无机碳浓度的海水: 往无碳海水中加入 NaHCO_3 , 配制无机碳浓度为 0, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 4, 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的海水。取适量藻体置于不同无机碳浓度海水中, 培养 4 h, 测量 10, 50, 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 三种光照强度下的放氧速率。通过 Michaelis-Menten 方程 $v = v_{\text{max}} \times [s] / (K_m + [s])$, 求得最大光合速率 (v_{max})。其中: $[s]$ 为无机碳浓度; v 为该无机碳浓度下的净光合速率; K_m 为最大光合速率一半时的无机碳浓度。

1.7 比生长速率

用纱布吸干藻体表面水分, 称量培养前后藻体鲜重, 分别记为 W_{F_0} 、 W_{F_t} 。计算比生长速率 μ 的公式为: $\mu = (\ln W_{F_t} - \ln W_{F_0}) \div t$, 其中 t 为培养时间 (d)。

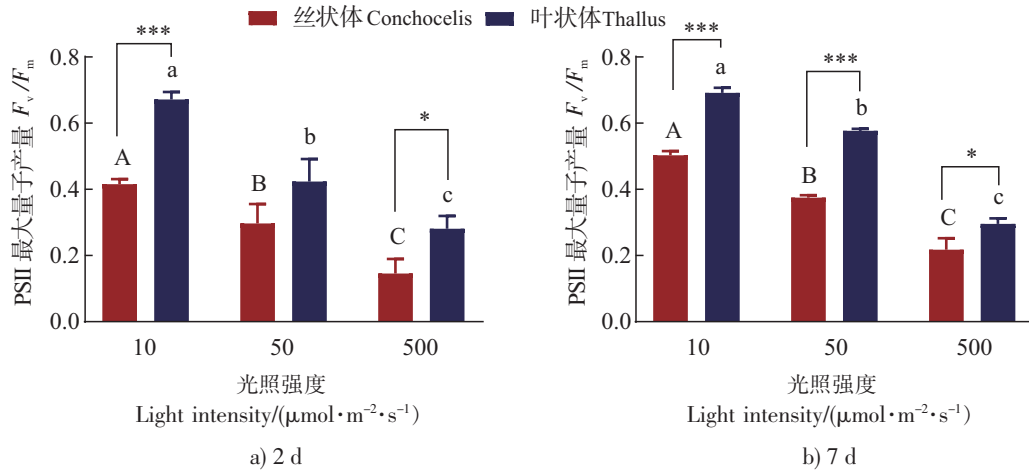
1.8 数据分析

用 t 检验、单因素方差分析和双因素方差分析法, 分析光强对坛紫菜两个世代的影响和差异。设定显著性差异为 $P < 0.05$, 极显著差异为 $P < 0.001$, 所用软件为 SPSS statistics 22.0。

2 结果分析

2.1 光强对 F_v/F_m 的影响

三种光强下, 叶状体的 F_v/F_m 均明显高于丝状体 ($P < 0.05$, 见图 1)。其中, 在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下, 差异极显著 ($P < 0.001$)。随着光强的增加, 丝状体和叶状体的 F_v/F_m 都明显下降, 即与光强呈负相关。在 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下, 叶状体与丝状体的 F_v/F_m 降幅都超过了 55%。



*— $P < 0.05$; ***— $P < 0.001$; 字母不同表示三种光强处理间的差异显著 ($P < 0.05$)

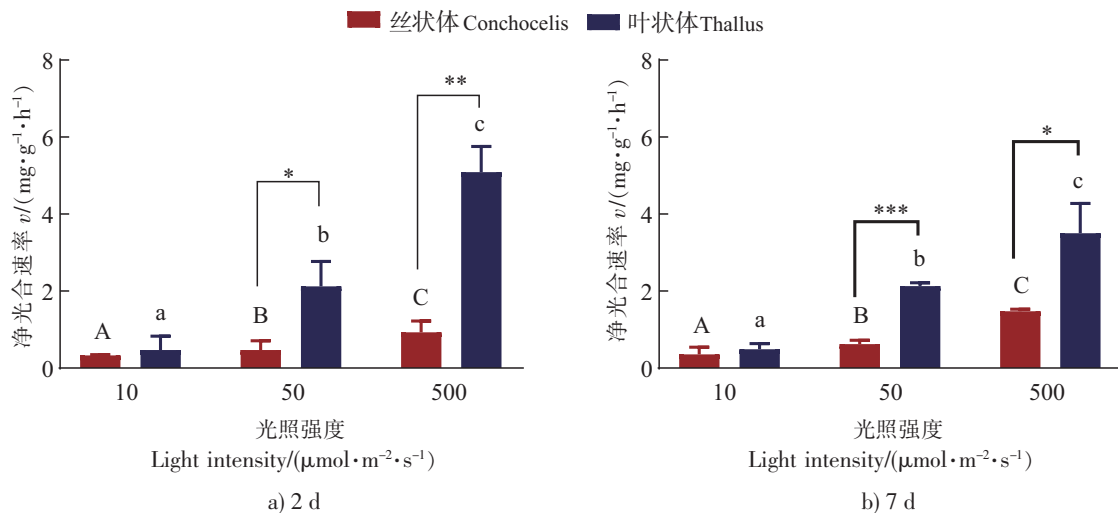
*— $P < 0.05$; ***— $P < 0.001$; different letters indicate significant differences between three light treatments by tukey's HSD test ($P < 0.05$)

图 1 三种光强下培养 2 d 及 7 d 后坛紫菜两个世代的 F_v/F_m 值

Fig.1 The F_v/F_m of two generations of *P. haitanensis* cultured for two days and seven days at three light intensities

2.2 光强对光合效率的影响

培养时间相同时, 光强升高可以增大藻体的净光合速率, 并且叶状体比丝状体的增幅更大 (见图 2)。与 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 相比, 光强提高到 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 叶状体和丝状体净光合速率分别增加 2.8 和 7.1 以上。无论培养 2 d 或 7 d, 在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下, 叶状体与丝状体的净光合速率没有明显差异 ($P > 0.05$); 提高光强后, 叶状体净光合速率均显著高于丝状体 ($P < 0.05$)。



*— $P < 0.05$; **— $P < 0.01$; ***— $P < 0.001$; 字母不同表示三种光强处理间的差异显著 ($P < 0.05$)

*— $P < 0.05$; **— $P < 0.01$; ***— $P < 0.001$; different letters indicate significant differences between three light treatments by tukey's HSD test ($P < 0.05$)

图 2 三种光强下培养 2 d 及 7 d 后坛紫菜两个世代的净光合速率

Fig.2 The net photosynthetic rate of two generations of *P. haitanensis* cultured for two days and seven days at three light intensities

2.3 光强及无机碳浓度对光合速率的影响

如图 3 所示, 坛紫菜叶状体和丝状体的光合放氧速率都先随无机碳浓度 (DIC) 的升高而增加, 趋近饱和后不再增加。无论培养 2 d 或 7 d, 光强为 50, 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 叶状体的净光合速率总是极显著高于丝状体 ($P < 0.001$)。这说明坛紫菜丝状体的光补偿点比叶状体低, 更容易达到饱和。

如表 1 所示, 丝状体和叶状体的最大光合速率 (v_{max}) 随光照强度显著增加 ($P < 0.001$), 说明光照强度可以影响坛紫菜的光合固碳能力。在 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 及 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光强下, 无论培养 2 d 或 7 d, 丝状体的 v_{max} 无显著差异 ($P > 0.05$)。随光强的增加, 叶状体 v_{max} 逐渐大于丝状体, 尤其在 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下, 叶状体的 v_{max} 极显著高于丝状体 ($P < 0.001$), 达到 6 倍以上, 说明坛紫菜不同世代对无机碳的利用能力存在较大差异。

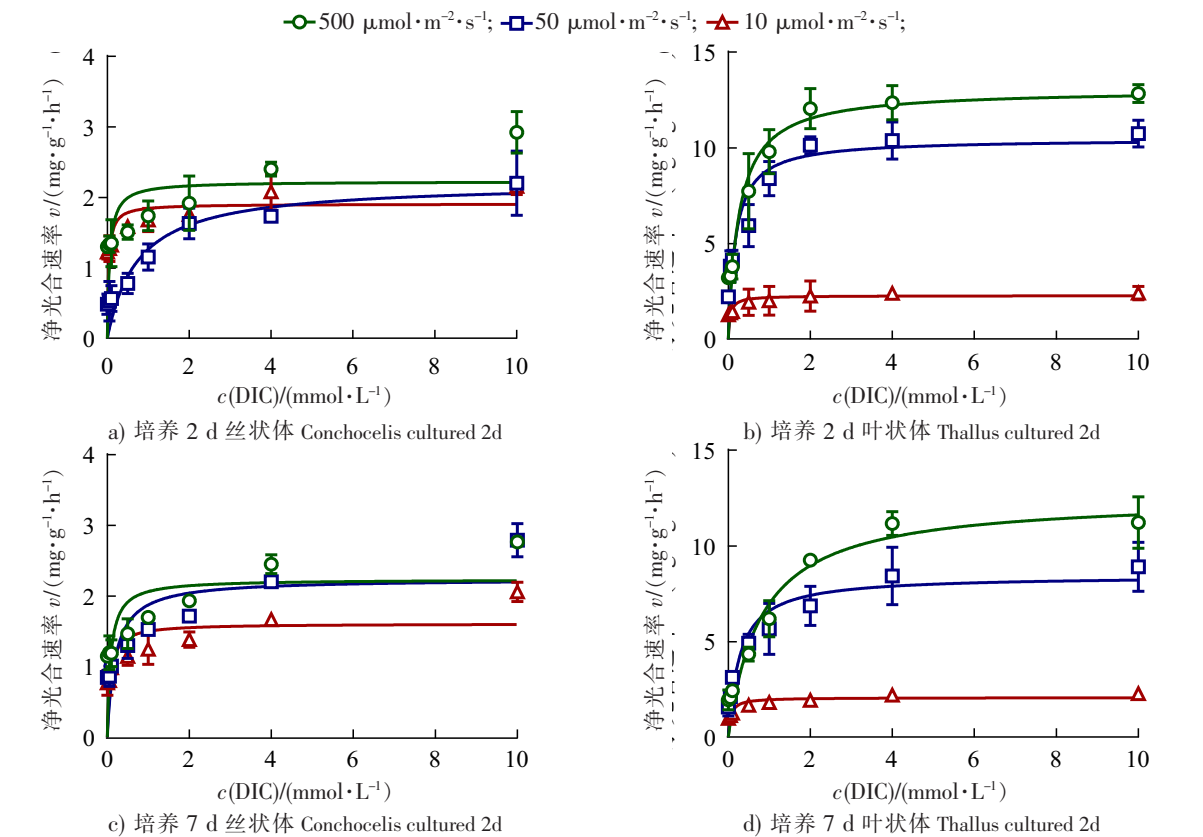


图 3 三种光强下培养 2 d 和 7 d 后坛紫菜两个世代的 P-C 曲线($n=3, \bar{x} \pm \text{SD}$)

Fig.3 The P-C curves of two generations of *P. haitanensis* cultured for two days and seven days at three light intensities($n=3, \bar{x} \pm \text{SD}$)

表 1 三种光强下坛紫菜的 v_{max} ($n = 3, \bar{x} \pm \text{SD}$)

Tab.1 The v_{max} of *P. haitanensis* at three light intensities ($n = 3, \bar{x} \pm \text{SD}$)

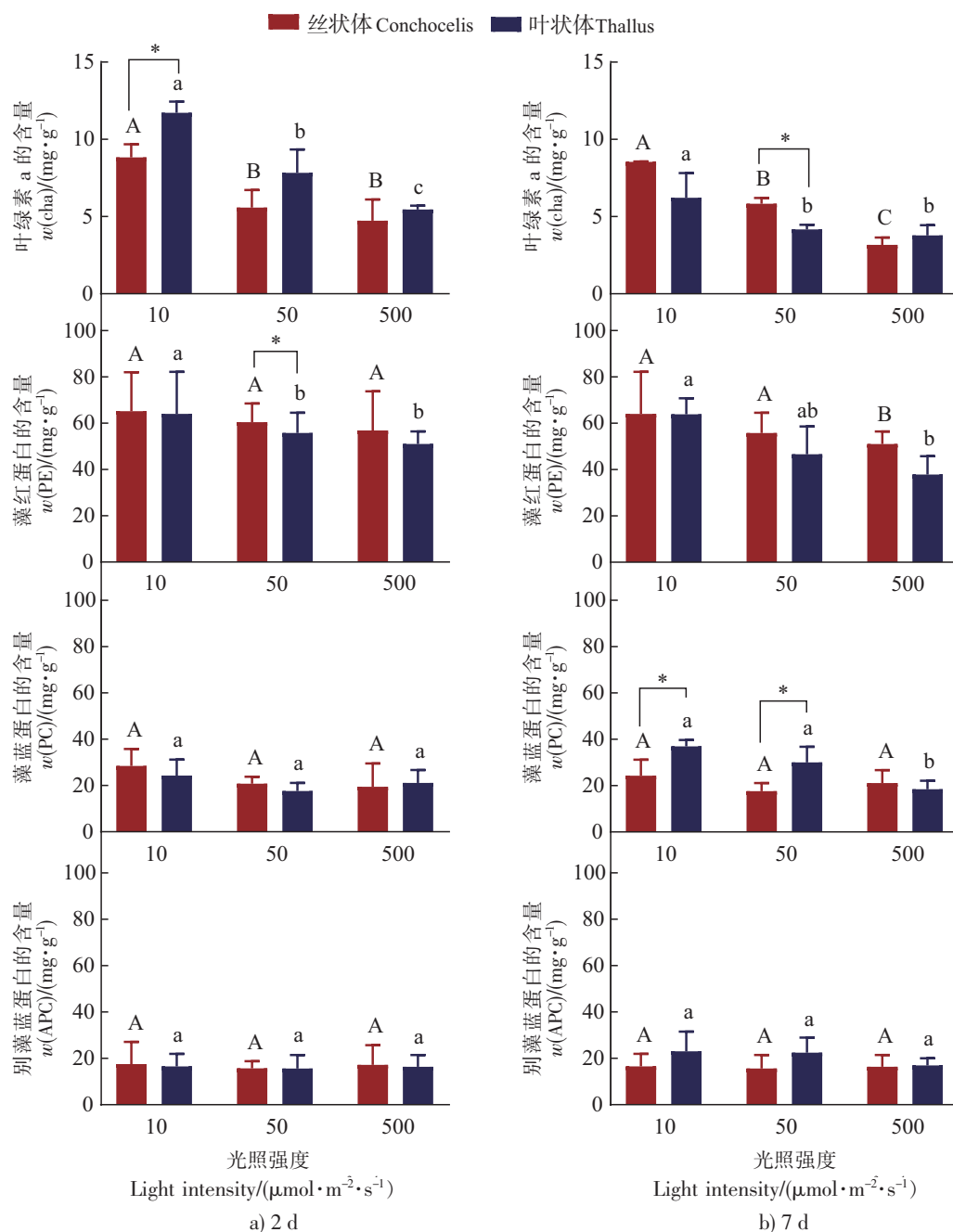
光照强度 Light intensity /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	2 d		7 d	
	丝状体 Conchocelis	叶状体 Thallus	丝状体 Conchocelis	叶状体 Thallus
10	1.91 ± 0.034 ^{a*}	2.28 ± 0.28 ^{a*}	1.608 ± 0.21 ^{a*}	2.076 ± 0.22 ^{a*}
50	2.21 ± 0.75 ^{b*}	10.47 ± 0.89 ^{b*}	2.243 ± 0.34 ^{b*}	8.445 ± 0.74 ^{b*}
500	2.23 ± 0.36 ^{b*}	13.05 ± 1.06 ^{c*}	2.360 ± 0.33 ^{b*}	12.550 ± 1.24 ^{c*}

说明: “*”表示 $P < 0.05$; 同一列字母不同表示不同光强处理间的差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: *— $P < 0.05$; different letters in the same colum indicate significant differences between three light treatments by tukey’s HSD test ($P < 0.05$) .

2.4 光强对色素含量的影响

不论培养 2 d 或 7 d, 丝状体和叶状体的 Chl *a* 含量随光照强度的增加而呈极显著降低 ($P < 0.001$)。丝状体和叶状体中, PE 含量在 $38 \sim 65 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内, 远高于其他色素。叶状体 PE 含量随光强的增加而降低 ($P < 0.05$); 但在丝状体中, PE 含量仅在培养 7 d 下与光强呈负相关 ($P < 0.05$)。整体而言, 光强对 PC 和 APC 含量的影响较小 ($P > 0.05$)。仅在培养 7 d 后, 叶状体中 PC 含量与光强呈负相关关系 ($P < 0.05$) (见图 4)。



“*”表示 $P < 0.05$; 字母不同表示光强处理间显著差异 ($P < 0.05$)

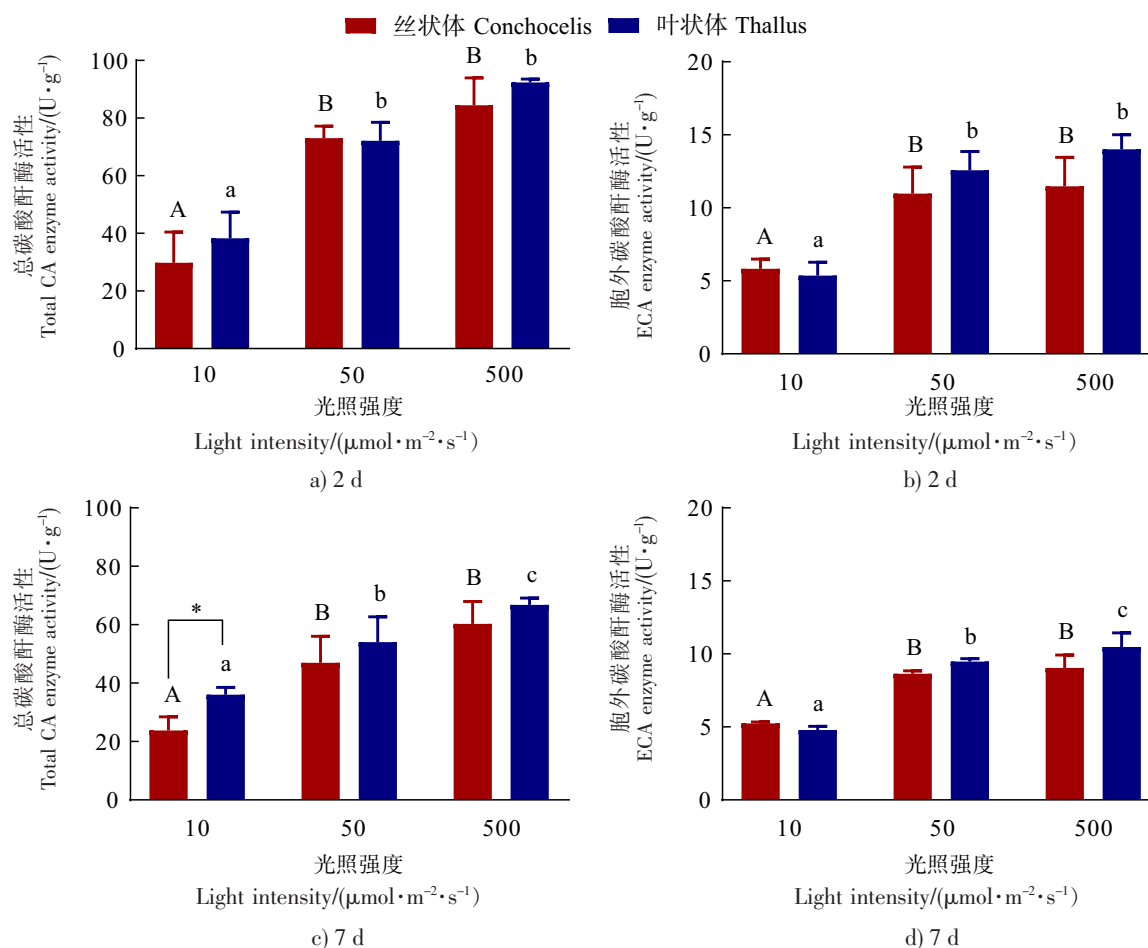
— $P < 0.05$; different letters indicate significant differences between three light treatments by tukey's HSD test ($P < 0.05$)

图 4 三种光照强度下培养 2 d 及 7 d 后坛紫菜两个世代的色素含量

Fig.4 The pigment content of two generations of *P. haitanensis* cultured for two days and seven days at three light intensities

2.5 光强对碳酸酐酶活性的影响

由图5所示, 培养2 d或7 d, total CA和eCA活性均与光强呈正相关 ($P < 0.001$)。与 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 相比, 在 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下, 叶状体和丝状体的 total CA和eCA活性增幅均超过40%。在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下培养7 d, total CA存在世代差异 ($P < 0.05$), 但在其他光照与培养时间下, 坛紫菜的 total CA和eCA均无显著的世代差异 ($P > 0.05$) (见图5)。



* 表示 $P < 0.05$; 字母不同表示光强处理间的显著差异 ($P < 0.05$)

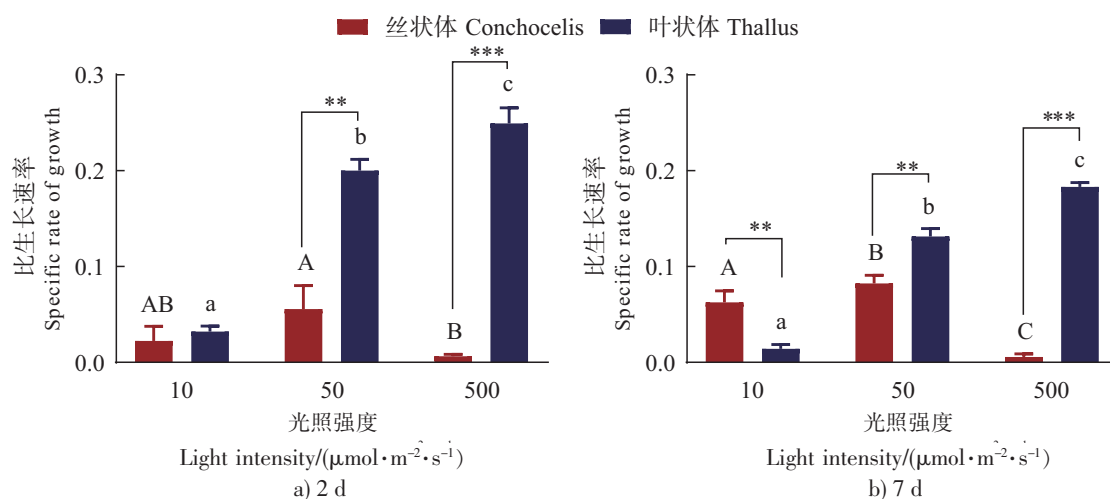
*— $P < 0.05$; different letters indicate significant differences between three light treatments by tukey's HSD test ($P < 0.05$)

图5 三种光强下培养2 d和7 d后坛紫菜两个世代 total CA和eCA酶活性

Fig.5 Total CA and eCA enzyme activity of two generations of *P. haitanensis* cultured for two days and seven days at three light intensities

2.6 光强对生长的影响

如图6可见, 坛紫菜丝状体和叶状体的生长对光强的响应存在差异。培养2 d或7 d, 叶状体生长和光强均呈正相关, 相比于 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 在 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下叶状体的生长增加670%以上 ($P < 0.001$)。而丝状体截然相反, 相比于 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 在 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下培养2 d, 丝状体的生长降低了90% ($P < 0.001$)。在50, $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下培养, 坛紫菜的生长存在明显的世代差异 ($P < 0.05$), 尤其在 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下培养2 d, 叶状体的比生长速率 μ 比丝状体高了近42倍。然而, 在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下培养7 d, 丝状体 μ 比叶状体高了近5倍。



— $P < 0.01$; *— $P < 0.001$; 字母不同表示光强处理间的显著差异 ($P < 0.05$)

— $P < 0.01$; *— $P < 0.001$; different letters indicate significant differences between three light treatments by tukey's HSD test ($P < 0.05$)

图 6 三种光照强度培养 2 d 和 7 d 后坛紫菜两个世代的比生长速率

Fig.6 The growth rate of two generations of *P. haitanensis* cultured for two days and seven days at three light intensities

3 讨论

3.1 无机碳利用的世代差异对光强的应答

藻类通过光合作用固定 CO_2 , 而环境中 CO_2 浓度是影响藻类光合作用的限制因素, 因而藻类进化出了 CCM 以便能够更好地在低 CO_2 环境中进行光合作用。光是光合作用的能量来源, 因此理论上光照强度会对 CCM 产生影响。CA 是 CCM 中的重要组成部分, 它催化 CO_2 和 HCO_3^- 的相互转换, 在水生植物的无机碳利用方面发挥着重要作用^[4,17]。本研究中, 叶状体和丝状体的 total CA、eCA 的活性与光强呈正相关 (见图 5), 表明光照增强可以提高 CCM 效率。同时, 在三种光强下, 坛紫菜叶状体的 total CA 和 eCA 的活性均高于丝状体 (见图 5), 可见坛紫菜 CA 的活性存在明显世代差异。以往研究表明, 增加光照强度可提高海洋硅藻、微胞藻和小球藻 CA 的活性, 并且其光合作用和生长速率都随之增加^[18-19]。这说明增强光照可以提高 CA 活性, 进而提高 CCM 效率, 为光合固碳提供碳源。

藻体对无机碳的利用会影响光合速率, 因此最大光合速率 v_{\max} 是判断藻类无机碳亲和力的重要参数。本研究结果表明, 随着无机碳浓度的提高, 坛紫菜丝状体的 v_{\max} 比叶状体更容易达到峰值, 表明叶状体对无机碳利用能力更强 (见图 3)。此外, 叶状体与丝状体的 v_{\max} 均与光强呈正相关 (见表 1), 这与 Takashi^[20] 在衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 中的研究结果相一致, 这表明光强可以影响 CCM。净光合速率是碳捕获能力的最终体现。本研究中, 相比于光强 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 坛紫菜在光强 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下培养 2 d 和 7 d 后, 丝状体和叶状体的净光合放氧速率提高至 2.8 倍和 7.1 倍 (见图 2)。这些结果说明光强的增加可以提高无机碳的利用能力, 从而对坛紫菜的光合作用产生促进效果。

综上, 坛紫菜两个世代的无机碳利用对光强的应答存在明显差异。

3.2 光强对光合作用和生长的影响及世代差异

光是影响大型海藻生长的重要环境因素之一, 光强变化会影响藻类的光合作用、色素合成、营养物质积累及生长速率^[21]。 F_v/F_m 是一种准确、灵敏的光响应检测指标, 能反映藻体受到光抑制的程度^[22]。在强光下, 能量过载和对 PS II 的损伤是 F_v/F_m 降低的主要原因^[23]。在本研究中, 随着光强的增加, 坛紫菜的两个世代 F_v/F_m 均逐渐降低, 说明强光对叶状体和丝状体的光合系统均产生抑制作用 (见图 1)。高等植物会改变捕光色素的浓度和比例, 在强光下减少色素含量以减弱光抑制, 而在弱光下提高色素含量以提高捕光效率^[23-24]。坛紫菜的捕光色素不仅有叶绿素, 还有大分子藻胆蛋

白。本研究发现,随着光照增加,坛紫菜 Chl *a* 和 PE 含量显著降低,但 PC 和 APC 含量没有显著变化(见图4)。这说明坛紫菜的色素对光强的应答比高等植物更复杂。Harb 等^[25]发现,增加光强,红藻拟鸡毛菜(*Pterocladia capillacea*)的 PC 含量减少,但 Chl *a* 和 APC 含量没有明显变化,而 PE 含量是先增加后减少。龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)随光强的增加,PC 和 Chl *a* 含量不变,而 PE 及 APC 含量减少^[26]。由此可知,坛紫菜、龙须菜和拟鸡毛菜三种红藻对光的响应并不相同。

光合作用是光合生物干物质积累的基础,因此决定了经济海藻的产量^[27]。但是不适宜的光强会抑制或减弱光合作用,从而抑制植株的生长。赵振鲁等^[28]和 Wang 等^[3]通过对虫黄藻(*Symbiodinium voratum*)、绿藻(*Botryococcus braunii*)的研究发现,藻体生长速率随光强增加呈现先增加后降低的趋势。研究^[10-12,29]表明,坛紫菜叶状体比丝状体更喜强光,但两个世代来自不同的品系。本研究中,通过比较来自同一品系的叶状体和丝状体,发现:相较于光强 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,高光强 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下丝状体的生长速率降低了 90%,而叶状体则升高了 38%;低光强 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下,丝状体生长速率下降了 25%,叶状体却下降了 85%(见图6)。这说明强光对坛紫菜叶状体生长有促进作用,但抑制丝状体生长;坛紫菜丝状体更适应低光,而叶状体更适应高光,两个世代的光合作用和生长,以及对光强的应答存在明显差异。

综上所述,坛紫菜两个世代对光强的应答在无机碳利用、光合作用以及生长上存在差异。坛紫菜的生长速率不完全与光化学反应和固碳效率相一致。因此,在坛紫菜高产新品系的选育与评估时,生长速率才是衡量产量的重要指标,净光合速率只能作为辅助参考。在坛紫菜丝状体育苗、叶状体养殖以及种质保存期间,应选择适宜的光照强度进行培育以满足生产需求。

[参 考 文 献]

- [1] DEEGAN L A, WRIGHT A, AYVAZIAN S G, et al. Nitrogen loading alters seagrass ecosystem structure and support of higher trophic levels [J]. Aquatic Conservation-Marine and Freshwater Ecosystems, 2002, 12(2): 193-212.
- [2] WANG Y Y, XU K, WANG W L, et al. Physiological differences in photosynthetic inorganic carbon utilization between gametophytes and sporophytes of the economically important red algae *Pyropia haitanensis* [J]. Algal Research, 2019, 39: 101436.
- [3] WANG S K, GUO C, WU W, et al. Effects of incident light intensity and light path length on cell growth and oil accumulation in *Botryococcus braunii* (Chlorophyta) [J]. Engineering in Life Sciences, 2019, 19(2): 104-111.
- [4] GIORDANO M, BEARDALL J, RAVEN J A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution [J]. Annual Review of Plant Biology, 2005, 56(1): 99-131.
- [5] SÜLTEMEYER D, SCHMIDT C, FOCK H P. Carbonic anhydrases in higher plants and aquatic microorganisms [J]. Physiologia Plantarum, 1993, 88(1): 179-190.
- [6] CHEN C S, DAI Z Z, XU Y, et al. Cloning, expression, and characterization of carbonic anhydrase genes from *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Applied Phycology, 2016, 28(2): 1403-1417.
- [7] HAWKES M W. Ultrastructure characteristics of monospore formation in *Porphyra gardneri* (rhodophyta) [J]. Journal of Phycology, 1980, 16(2): 192-196.
- [8] 何培民. 海藻栽培学 [M]. 北京: 科学出版社, 2018: 242-297.
- [9] 曾呈奎. 海藻栽培学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 154-170.
- [10] WU H. Effect of different light qualities on growth, pigment content, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in the red alga *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Biomed Research International, 2016, 2016: 7383918.
- [11] 翁祖桐. 光强对坛紫菜自由丝状体营养藻丝生长及生理指标的影响 [J]. 福建农业学报, 2019, 34(4): 488-494.
- [12] 李梦雅, 许凯, 唐小虹, 等. 海洋酸化对经济海藻坛紫菜叶状体的光照强度和温度适应范围的影响 [J]. 应用海洋学学报, 2021, 40(3): 388-394.

- [13] WANG Y, STESSMAN D J, SPALDING M H. The CO₂ concentrating mechanism and photosynthetic carbon assimilation in limiting CO₂: how *Chlamydomonas* works against the gradient [J]. *Plant Journal*, 2015, 82(3): 429-448.
- [14] WILBUR K M, ANDERSON N G. Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase [J]. *Anatomical Record*, 1948, 101(4): 685.
- [15] JENSEN A. Chlorophylls and carotenoids [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1978.
- [16] 高洪峰. 不同生长期坛紫菜中藻胆蛋白的含量变化 [J]. *海洋与湖沼*, 1993, 24(6): 645-648.
- [17] KAPLAN A, RONEN-TARAZI M, ZER H, et al. The inorganic carbon-concentrating mechanism in cyanobacteria: induction and ecological significance [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1998, 76(6): 917-924.
- [18] WANG S, LIU Y, ZOU Y, et al. Modulation and adaptation of carbonic anhydrase activity in *Microcystis* spp. under different environmental factors [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(8): 2443-2448.
- [19] 曾晓鹏, 夏建荣. 光强对两种硅藻光合作用、碳酸酐酶和 RubisCO 活性的影响 [J]. *水生生物学报*, 2015, 39(2): 368-374.
- [20] TAKASHI Y, KENJ I M, FUKUZAWA H. Expression analysis of genes associated with the induction of the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(1): 340-354.
- [21] RABINOWITCH E I. Photosynthesis and related processes [M]. New York: Interscience publishers Inc, 1956.
- [22] HENLEY W J. Measurement and interpretation of photosynthetic light-response curves in algae in the context of photoinhibition and diel changes [J]. *Journal of Phycology*, 2010, 29(6): 729-739.
- [23] DEMMIG-ADAMS B, ADAMS W W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992, 43(1): 599-626.
- [24] KITTISAK Y, BOZENA C, SHANNON B, et al. Photosystem II damage and repair cycle in the green alga *Dunaliella salina*: involvement of a chloroplast-localized HSP70 [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001, 42(12): 1389-97.
- [25] HARB T B, NARDELLI A, CHOW F. Physiological responses of *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, Gelidiales) under two light intensities [J]. *Photosynthetica*, 2018, 56(4): 1093-1106.
- [26] CAO X X, WANG H T, ZANG X N, et al. Changes in the photosynthetic pigment contents and transcription levels of phycoerythrin-related genes in three *Gracilariopsis lemaneiformis* strains under different light intensities [J]. *Journal of Ocean University of China*, 2021, 20(3): 661-668.
- [27] 张其德, 蒋高明, 朱新广, 等. 12 个不同基因型冬小麦的光合能力 [J]. *植物生态学报*, 2001, 25(5): 532-536.
- [28] 赵振鲁, 刘甲星, 张跃环, 等. 离体培养的虫黄藻 (*Symbiodinium voratum*) 对温度和光照的生理响应 [J]. *海洋与湖沼*, 2019, 50(2): 316-323.
- [29] 付阳阳, 丁洪昌, 林琪, 等. 光强、温度和 N/P 比对坛紫菜叶状体单性生殖发生的影响 [J]. *水产学报*, 2019, 43(3): 650-660.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)